

**PLIEGO DE CLÁUSULAS TÉCNICAS PARTICULARES QUE HA DE REGIR EN LA CONTRATACIÓN DE SUMINISTRO DE MICROSCOPIO DE FLUORESCENCIA CON ESCANEO DE FIBRA ÓPTICA GALVANOMÉTRICA Y SEPARACIÓN ESPECTRAL HOLOGRÁFICA QUE INTEGRE MÓDULO CONFOCAL Y SUPERRESOLUCIÓN PARA LA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO 12 DE OCTUBRE MEDIANTE EL PROCEDIMIENTO ABIERTO POR PLURALIDAD DE CRITERIOS, DESTINADO A LA EJECUCIÓN DE AYUDAS DENTRO DEL SUBPROGRAMA ESTATAL DE EQUIPAMIENTO E INFRAESTRUCTURAS CIENTÍFICO-TECNICAS DE LA AES 2017-2020, CON CARGO A LOS FONDOS EUROPEOS DEL PLAN DE RECUPERACION, TRANSFORMACIÓN Y RESILIENCIA Y SUBVENCIONADO POR EL ISCIII CON NÚMERO EXPEDIENTE IFEQ21/000012**

**EXPEDIENTE FIB 2023/003**

## **1. OBJETO**

El presente pliego tiene por objeto definir las características técnicas y funcionales de un microscopio de fluorescencia con escaneo de fibra óptica galvanométrica y separación espectral holográfica que integre módulo confocal y superresolución, cuya adquisición permitirá el estudio de estructuras subcelulares de relevancia biomédica.

## **2. PARTES Y COMPONENTES DEL SUMINISTRO:**

- Microscopio invertido completamente motorizado
- Sistema de autodetección de la muestra
- Sistema de autoenfoco de la muestra.
- Incubación
- Módulo confocal
  - Sistema láser
  - Sistema de barrido
  - Sistema de detección
- Módulo de superresolución o resolución mejorada
- Estación de trabajo y software de control, adquisición y análisis
- Mesa antivibratoria
- Manuales
- Cursos de formación

## **3. CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS:**

### **3.1. Características generales:**

- **Microscopio**, que presentará corrección apocromática en todo su recorrido interno de la luz, lo que ofrece de manera sistemática un excelente contraste y una iluminación homogénea a cualquier longitud de onda de excitación, consiguiendo una excelente relación señal-ruido.
- **Módulo Confocal**, con un sistema de detección espectral de alta sensibilidad con un pinhole de corrección apocromática que se pueda ajustar a voluntad para experimentos de “multitracking” y experimentos con longitudes de onda cortas siendo el alineamiento de este automático.
- **Láseres**, que se acoplen al cabezal de barrido mediante fibra óptica evitando la necesidad de

alineamiento, minimizando las labores de mantenimiento, por lo que se aumentará la estabilidad y durabilidad del sistema, con un control preciso de la intensidad del láser en cada pixel, así como de la detección de señal, lo cual permitirá elegir una sola línea y/o la combinación de varias longitudes de onda, las cuales se podrán regular directamente con un ajuste continuo desde 0% a 100% de intensidad.

- **Escáneres**, que estarán formados por dos espejos de barrido galvanométricos independientes de alta velocidad.

- **Separación espectral** de emisión entrante que contenga una rejilla holográfica de alta eficiencia que asigne a cada longitud de onda una posición física específica en la que cada unidad de detección tenga un rango espectral de 400-750 nm consiguiendo una separación del espectro muy homogénea.

Dispondrá de cuatro detectores espectrales de alta sensibilidad cuya unidad de detección llega a albergar hasta 34 canales de detección de fluorescencia con espectros de emisión muy cercanos de forma rápida y sin superposición.

- **Modulo de super-resolución**, que permita aumentar la resolución en X, Y y Z con un aumento de la relación señal-ruido de 4-8 veces y que proporcione información sobre estructuras complejas en 3D (incluyendo células o tejidos fijados y sistemas biológicos vivos como esferoides, organoides y pequeños organismos modelo) al mismo tiempo, sin requerir una preparación específica ni compleja de la muestra. Este módulo incluirá un detector de alta resolución que permitirá una alta sensibilidad global de todo el sistema de detección hasta alcanzar una resolución lateral por debajo de la microscopía confocal convencional.

### 3.2. Características específicas:

#### Componentes del microscopio

- Estativo (microscopio) invertido completamente motorizado en las distintas funciones (tipo de iluminación, filtros de fluorescencia, revolver de objetivos, diafragmas, obturadores...), equipado para la observación de muestras con luz transmitida, contraste interferencial DIC y fluorescencia.
- Rutas ópticas motorizadas y configurable vía software
- Platina motorizada en XY de alta resolución y precisión piezoeléctrica en Z
  - a) Adecuada para hacer experimentos multiposición, mosaicos, 3D y 4D
  - b) Resolución de al menos 0,1µm en el movimiento
  - c) Amplio rango de recorrido (al menos 130mm x 100mm).
  - d) Soporte para placas Petri, placas multiposición y portaobjetos.
- Revolver de 6 posiciones motorizado y objetivos Plan APO optimizados para microscopía confocal:
  - a) Objetivo 5x seco, apertura numérica (NA)  $\geq 0,16$
  - b) Objetivo 10x seco NA  $\geq 0,45$
  - c) Objetivo 25x NA  $\geq 0,8$  multi-inmersión, con corrección para diferentes medios de inmersión como aceite, agua, silicona o glicerol y de larga distancia de trabajo

- d) Objetivo 40x NA  $\geq 1,2$  multi-inmersión, con corrección para diferentes medios de inmersión como aceite, agua, silicona o glicerol y de larga distancia de trabajo
- e) Objetivo 60 ó 63x NA  $\geq 1,4$  de inmersión en aceite
- Condensador y elementos necesarios para la visualización de la técnica de DIC en todos los objetivos.
- Sistema de iluminación de fluorescencia con al menos 4 LEDs y revolver de reflectores con filtros de fluorescencia incluidos para cubrir espectros de excitación de 630nm, 555nm, 475 nm y 385 nm o similares.
- Se incluirá un sistema óptico que detecte de manera automática y asistida por inteligencia artificial la muestra, que identifique las áreas relevantes donde se ubica la muestra y ajuste el enfoque, incluso en casos en que la muestra tenga bajo contraste, o no estén teñidas.
- Sistema de enfoque automatizado por hardware, basado en la medida y corrección automática del ángulo de reflexión de un haz de luz infrarroja proyectada sobre la interfase entre el soporte y el medio acuoso en el que se encuentra alojada la muestra.
- Sistema de incubación sobreplatina con calefacción mediante resistencias y control digital activo de temperatura, humedad y concentración de CO<sub>2</sub> y O<sub>2</sub>.

## Módulo confocal, láseres, escáneres y detectores

### Sistema de láseres:

- a) Formado por láseres directamente conectados a la unidad de escaneo para evitar alineamientos posteriores
- b) El sistema debe incluir al menos las siguientes líneas de laser tipo diodo o similares:
  - 405nm
  - 488nm
  - 561nm
  - 639nm
- c) Todas las líneas de laser se han de poder usar simultáneamente y el control de los mismos y de su potencia lineal debe de poder llevarse a cabo mediante el software.

El control de la potencia lineal (de 0% a 100%) de cada uno de los láseres se llevará a cabo mediante un filtro sintonizable óptico-acústico (AOTF) o similar, regulable desde el mismo software.

### Sistema de barrido

- a) Resolución máxima de escaneo de al menos: 8192 x 8192 pixeles ajustable en continuo.
- b) Velocidad de escaneo: al menos 13 imágenes por segundo (fps) a resolución 512 x 512
- c) Zoom de escaneo de 0,6x a 40x ajustable digitalmente en incrementos de 0,1.
- d) Capacidad de rotación del campo 360° ajustable en incrementos de 0,1°
- e) Rango dinámico seleccionable de 8 a 16 bits.
- f) Posibilidad de escanear regiones de interés (ROIs) definidas por el usuario
- g) Movimiento lineal de escaneo para garantizar que el tiempo de residencia por pixel sea el mismo y así poder llevar a cabo estudios cuantitativos
- h) El sistema debe tener un control constante de la temperatura de escaneo para compensar la influencia de ésta sobre el movimiento del haz lumínico.

## Unidad de detección central

- a) Sistema especializado en incrementar la sensibilidad del equipo, mediante circuito espectral de redireccionamiento de la luz emitida o similar.
- b) La unidad central deberá estar formada por 3 detectores de alta sensibilidad (un detector de GaAsp, un PMT y un PMT corregido para el rojo).
- c) Además, incluirá un detector adicional para la luz transmitida
- d) Un detector para super resolución

## Detector de super-resolución o resolución mejorada

Detector de resolución aumentada que permita la adquisición de imágenes en cualquier rango del espectro visible por debajo del límite de la resolución lateral óptica hasta 90nm XY (>2,5 veces la resolución límite confocal), con pérdida mínima de sensibilidad y velocidad. Este sistema estará basado en la paralelización de la detección de la imagen mediante detector de alta resolución de elementos ópticos en array o similar, que permita un aumento de resolución basado en la mejora de detección óptica por métodos físicos, y no basado únicamente en técnicas de tratamiento de imagen y deconvolución. El detector monocromático deberá constar de al menos 32 elementos ópticos conformando un único detector especial. Cada elemento óptico tendrá una apertura confocal 0,2 unidades de airy (UA) que permita reproducir la PSF (*point spread function*) en cada punto escaneado de la muestra. Esta arquitectura paralela permite que cada uno de los elementos individuales forme su propia imagen, con su propia perspectiva y posteriormente cada una de estas imágenes se combine entre sí para generar una imagen final con mayor resolución y una relación señal ruido mejorada. Esta estructura o solución paralela similar, debe resultar en:

- Mejora de la relación señal ruido entre 4 y 8 veces en comparación con las técnicas de microscopía confocal con un único detector convencional
- La paralelización en la detección debe permitir flexibilizar o modular la velocidad de detección y resolución; de modo que el usuario pueda definir, para cada experimento, los parámetros necesarios en función de los requerimientos de la muestra
- Velocidad de escaneo de, al menos, hasta 4,7 fps (512 x 512) a la resolución lateral máxima (120nm). El sistema ha de ser capaz de modular la velocidad pudiendo llegar al menos a 47 fps (512 x 512)
- Capacidad de crear imágenes de un canal de fluorescencia con resolución mejorada y elevada velocidad en muestras *in vivo*, y hasta 8 líneas de imagen escaneadas en paralelo al mismo tiempo con niveles de intensidad láser muy bajos
- La optimización de las condiciones de adquisición para las imágenes de alta resolución debe estar integrada en el software y debe contar con un sistema automático de optimización de parámetros (pinhole, velocidad, distancia entre secciones, medida del pixel xy,...)
- Debe funcionar con todos los tipos de fluoróforos, sin necesidad de características específicas, se debe de poder utilizar las muestras tal cual se han preparado para imagen confocal sin necesidad de ninguna modificación

## Sistema de control, adquisición, procesamiento y reconstrucción.

- Software de adquisición:

Debe integrar el control de todas las funciones de manejo del microscopio y todos sus

accesorios, así como del sistema confocal y superresolución, para la adquisición de imágenes multidimensionales (x, y, z, t,  $\lambda$ ) de fluorescencia y luz transmitida.

a) Programación de experimentos no homogéneos, multitemporales, incluyendo Z-stack, mosaicos regulares e irregulares, multiposición y multicanal.

b) Herramientas para generar, almacenar y recuperar configuraciones, tareas y rutinas predefinidas y memorizadas, incluyendo las necesarias para realizar experimentos de secuencia temporal multidimensional complejos.

c) Posibilidad de definir ROIs

d) Corrección de foco, "stitching" y corrección de sombras. Módulo de reconstrucción de mosaicos con imágenes capturadas en múltiples posiciones.

- Software de análisis:

a) Modificaciones de histograma y medidas, visualización, almacenamiento, procesamiento y exportación de imágenes y experimentos

b) Análisis de colocación

c) Módulo para 3D: debe disponer de diferentes modos básicos para generar modelos 3D, así como animaciones sencillas a partir de las imágenes.

d) Funcionalidades para el análisis de las imágenes de alta resolución confocal y de superresolución.

Estación de trabajo completa de última generación y altas prestaciones, adecuada y suficiente para los elementos de software suministrados, con las siguientes características mínimas:

- Sistema operativo compatible con los diferentes programas de control y análisis del mercado
- Memoria RAM de al menos 128 GB
- Tarjeta gráfica de al menos 8 GB
- Disco duro de al 12TB
- Los monitores deben ser de al menos 32".

## Mesa antivibratoria

Se incluirá una mesa antivibratoria activa que albergue el microscopio y todos los componentes auxiliares para garantizar la máxima estabilidad reduciendo la influencia de vibraciones externas.

## DOCUMENTACIÓN TÉCNICA

El equipo se entregará con la siguiente documentación técnica:

- Información y rotulado sobre el equipo o en tarjetas de fácil acceso en los equipos que representen un riesgo especial para el paciente, de conformidad con la normativa que resulte de aplicación.

- Rótulos, indicadores y etiquetas del equipo deberán estar en español o ser suficientemente autoexplicativos.

## **OTROS REQUISITOS:**

Para asegurar la viabilidad de la adquisición, el contratista deberá entregar el equipo con todos sus elementos, en perfecto estado y preparados para servir al uso al que se destinan.

Igualmente, correrá de cargo del contratista la instalación y conexión del equipo, de forma que estos solo se entenderán entregados, en tanto la instalación haya sido completada y se haya verificado prueba de su correcto funcionamiento por parte del contratista y a presencia del responsable del contrato o personal técnico en quien el mismo delegue de acuerdo con lo establecido en la legislación vigente.

El adjudicatario se compromete a facilitar al personal responsable que va a utilizar este equipo la formación necesaria para su funcionamiento, con los cursos de carácter presencial que sean necesarios. Estos cursos deberán realizarse dentro del plazo de los cuarenta y cinco (45) días naturales siguientes a la entrega e instalación del suministro, corriendo a su cargo los medios que sean necesarios para su validación.

Podrá realizarse esta formación en un momento posterior si lo antedicho resultase imposible para los usuarios del equipo por cuestiones organizativas o cualquier evento justificado.

Se deberá indicar en la oferta la localización de la totalidad de las características establecidas en cada punto del Pliego Técnico, además de en la Oferta Técnica, en las fichas técnicas oficiales y/o catálogos y/o manuales técnicos del producto ofertado, de no ser así los aspectos no consignados no serán considerados, o en caso de ser limitantes se considerará que el producto no cumple el PPT.

El contratista se comprometerá al correcto desarrollo del contrato, con empleo de todos los medios que resulten necesarios para su adecuada calidad.

## **PLAZO DE ENTREGA:**

El plazo de ejecución del contrato será de 180 días, contado desde el día siguiente al de la firma del contrato, incluyendo el suministro y la instalación del equipo y formación.

Parciales: No

## **GARANTIA y MANTENIMIENTO:**

El plazo de garantía del producto a suministrar será de mínimo 3 años, a contar desde su correcta instalación, comprobación y recepción.

El adjudicatario está obligado a disponer de todos los repuestos, accesorios, componentes, kits, consumibles que puedan ser necesarios para el correcto mantenimiento preventivo, correctivo y técnico-legal durante un período mínimo de 10 años.



## LUGAR DE ENTREGA

Las entregas se realizarán en el Centro de Investigación previo aviso a los Responsables de la Plataforma de Microscopía, D<sup>a</sup>. Gema Ruiz Hurtado y D. Fernando Bartolomé, Avenida de Córdoba s/n, 28041 Madrid.

Madrid, a 8 de marzo de 2023

CONFORME:

Fdo: Joaquín Arenas Barbero

FIRMADO EL ADJUDICATARIO  
FECHA: